



## PRIMER REPORTE DE *Phytophthora palmivora* CAUSANDO PODREDUMBRE BLANDA EN FRUTOS DE LECHOSA (*Carica papaya* L.) EN VENEZUELA.

Chrystian Carrero†, Luis Cedeño, Henry Pino y Kleyra Quintero

Universidad de Los Andes, Instituto de Investigaciones Agropecuarias, Laboratorio de Fitopatología, Santa Rosa, Mérida, estado Mérida, Venezuela. luisc5452@gmail.com

Recibido: 03-05-2016

Aceptado: 24-08-2016

### RESUMEN

El objetivo de la investigación fue identificar el causante de una enfermedad de podredumbre blanda ocurrida en frutos de lechosa cultivada en la Reserva Forestal de Caparo, estado Barinas, Venezuela. La enfermedad apareció en frutos inmaduros donde inicialmente se apreciaron lesiones pardas de consistencia blanda que posteriormente fueron invadidas por un crecimiento blanco algodonoso constituido por hifas cenocíticas, zoosporangios típicos del género *Phytophthora* y clamidosporas mayoritariamente terminales y globosas. Los frutos se descompusieron en la planta y después de la cosecha. A partir de los tejidos afectados sólo se aisló un organismo oomiceto en V-8 agar produjo zoosporangios obpiriformes, hialinos y de  $(38,4-41,6 (-48,0) \times (29,0-31,6 (-40,0) \mu\text{m})$ . Considerando las características morfométricas de las estructuras reproductivas asexuales, el patógeno se identificó como *Phytophthora palmivora*. Síntomas similares a los observados en los frutos infectados naturalmente, fueron reproducidos experimentalmente en frutos sanos inoculados con cultivos puros del patógeno aislado.

**Palabras clave:** Clamidosporas, papaya, zoosporangios.

**FIRST REPORT OF *PHYTOPHTHORA PALMIVORA* CAUSING SOFT ROT ON FRUITS OF PAPAYA (*CARICA PAPAYA* L.) IN VENEZUELA. FITOPATOLOGIA VENEZOLANA.**

### SUMMARY

The objective of the research was to identify the causal agent of a soft rot disease occurred on fruits of papaya grown at Reserva Forestal de Caparo, Barinas State, Venezuela. The disease appeared on immature fruits where initially were observed brown lesions with soft consistency that later were invaded by a white cottony-like growth formed by hyphae coenocytic, zoosporangia typical of the genus *Phytophthora*, and chlamydospores mostly terminal and globose. The fruits infected became rotted while remained united to the plant or after harvest. From the infected tissues was only isolated an organism oomycete which produced on V-8 agar zoosporangios hyaline, obpyriform, and  $(38,4-41,6 (-48,0) \times (29,0-31,6 (-40,0) \mu\text{m})$ . Considering the morphometric characteristics of the asexual reproductive structures, the pathogen was identified as *Phytophthora palmivora*. Symptoms similar to those observed on fruits infected naturally were reproduced experimentally on healthy fruits which were inoculated with pure cultures of the pathogen isolated.

**Key words:** Chlamydospores, papaya, zoosporangia.

## INTRODUCCIÓN

La lechosa (*Carica papaya* L.), también conocida como papaya, es originaria de Centroamérica, pero desde hace varios siglos se cultiva en diversas regiones de los continentes africano, americano, y asiático (Storey, 1976), siendo sus mayores productores India, Brasil y México. Su nombre hace referencia al exudado blanco que segregan sus órganos cuando experimentan alguna punción o incisión. En el 2007 la producción mundial se estimó en 9 millones de toneladas métricas (FAO, 2010). El fruto fresco o procesado, es un complemento importante de la dieta del venezolano.

En Venezuela, tanto la planta como los frutos de la lechosa padecen enfermedades causadas por bacterias, hongos y virus, siendo las que tienen mayor significancia económica la marchitez bacteriana causada por especies del género *Erwinia* (Guevara *et al.*, 1987), antracnosis inducida por el hongo *Colletotrichum gloeosporioides*, mildiú polvoriento ocasionado por *Oidium caricae* (Rondón, 1990) y el virus de la mancha anillada (Vegas *et al.*, 2004).

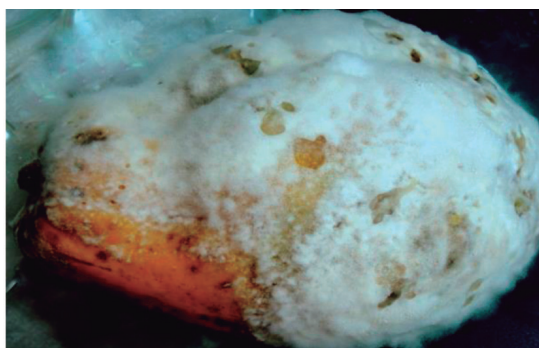
En Mayo de 2012, el Laboratorio de Fito-patología del Instituto de Investigaciones Agropecuarias de la Universidad de Los Andes, recibió frutos enfermos de lechosa provenientes del Asentamiento Campesino "Los Limones", localizado en la Reserva Forestal de Caparo, estado Barinas, Venezuela. Los frutos presentaban lesiones circulares de aspecto húmedo y consistencia blanda de donde emanaba un látex blanco lechoso. Los frutos con infecciones severas y avanzadas experimentan podredumbre blanda y son invadidos por un crecimiento blanco algodonoso que cuando fue examinado microscópicamente apareció constituido por hifas cenocíticas, zoosporangios con la morfología típica del género *Phytophthora* y clamidosporas globosas y terminales, aunque también las hubo intercalares con forma irregular. Por lo general, los frutos que presentan los síntomas y signos indicados se

caen prematuramente y depositan en el suelo las estructuras de sobrevivencia y de origen de nuevos focos de contaminación.

La investigación que se reporta tuvo como objetivo fundamental identificar la especie del microorganismo que causa la patología descrita.

## MATERIALES Y MÉTODOS

**Aislamiento.** Los aislamientos se obtuvieron a partir de frutos enfermos provenientes del asentamiento campesino "Los Limones", radicado en la Reserva Forestal de Caparo, estado Barinas. Los frutos infectados mostraban lesiones de color pardo claro, aspecto húmedo y consistencia blanda, siendo notable la presencia de un micelio blanco que cubría parcialmente el área afectada (Figura 1). De la interface tejido sano/tejido contaminado se extrajeron fragmentos de 1 x 1 cm<sup>2</sup>, los cuales fueron seguidamente sumergidos por 3 min en solución de hipoclorito de sodio al 0,5 %, lavados tres veces en agua destilada esterilizada (ADE), secados con papel absorbente esterilizado, cortados en segmentos de 2 x 2 mm<sup>2</sup> y sembrados en placas que contenían agua-agar acidificado con ácido láctico (AAA). Las placas se incubaron a 28 ± 2 °C y bajo un régimen de 12h de luz blanca fluorescente/oscuridad. Las colonias emergentes se examinaron en microscopio fotónico (Marca



**Figura 1:** Síntomas y signos de la podredumbre blanda causada naturalmente por *P. palmivora* en lechosa.

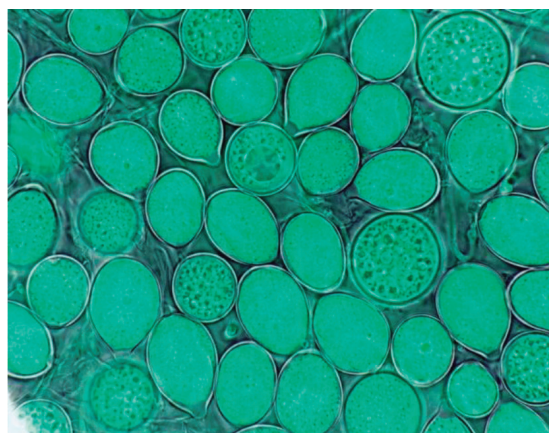
Zeiss, modelo Axioplan MC80), siendo posteriormente transferidas a placas que contenían papa-dextrosa –agar (PDA) y jugo V8-agar, las cuales se incubaron bajo las mismas condiciones antes descritas con el propósito de estimular la esporulación y, consecuentemente, proceder a registrar las características de las estructuras reproductivas. Las microfotografías fueron tomadas con cámara Cannon Power Shot 640 y las imágenes se procesaron con el programa Picasa 3® de Google.

**Identificación.** La identificación del patógeno se hizo sobre la base de las características morfométricas de zoosporangios desarrollados por colonias cultivadas durante 8d en V-8 agar y de clamidosporas producidas *in situ*. En atención a tales propósitos se consultó literatura especializada (Erwin y Ribeiro, 1996; Erwin *et al.*, 1983; Waterhouse, 1963; Waterhouse, 1970; Bush *et al.*, 2006, Gallegly & Hong, 2008).

**Patogenicidad.** En las pruebas de patogenicidad se utilizaron dieciséis frutos verdes de lechosa, los cuales no presentaban ninguna alteración. Como inóculo se usaron discos de agar-micelio de 1 cm de diámetro extraídos de colonias de 12d de crecimiento en V-8 agar. Seis frutos se inocularon a través de heridas provocadas por punción con una aguja disección esterilizada y seis sin heridas. Como controles se emplearon dos frutos con heridas y dos sin heridas y en ellos sólo se depositaron discos de V-8 agar sin el hongo. En cada fruto con heridas se hicieron punciones en cuatro sitios distintos. Todos los frutos fueron depositados en cámaras húmedas preparadas con bandejas de plástico transparente, papel absorbente esterilizado y ADE, las cuales se incubaron inmediatamente bajo condiciones normales del laboratorio ( $22 \pm 1$  °C). A partir de los frutos que resultaron infectados artificialmente, se hicieron los aislamientos necesarios para comprobar el cumplimiento de los postulados de Koch.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Todos los aislados que crecieron en AAA originaron colonias con características similares. Los sub-cultivados en PDA produjeron colonias de micelio blanco, aéreo y constituido por hifas cenocíticas. En V-8 agar desarrollaron zoosporangios obpiriformes, papilados y hialinos, los cuales midieron  $(38,4-41,6 (-48,0) \times (29,0-31,6 (-40,0) \mu\text{m}$  (Figs. 2 y



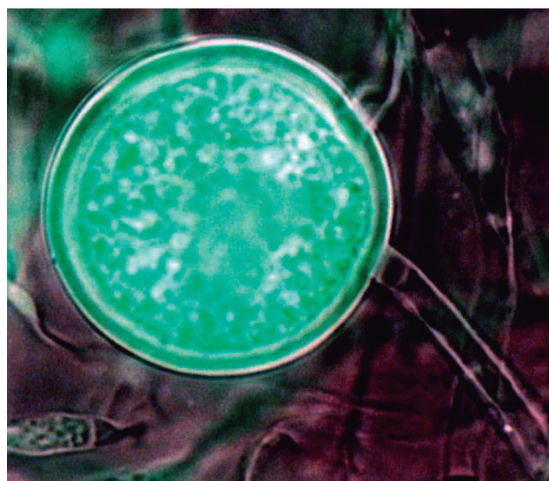
**Figura 2.** Zoosporangios y clamidosporas de *P. palmivora* en diferentes fases de madurez



**Figura 3.** Típico zoosporangio obpiriforme y papilado de *P. palmivora*



3). Las clamidosporas extraídas de frutos de lechosa infectados experimentalmente se apreciaron mayoritariamente terminales, globosas con pared celular gruesa (Figs. 2 y 4). Sobre la base de las características morfológicas, el microorganismo oomiceto se identificó como *Phytophthora palmivora* (Butler) Butler, especie descrita originalmente en 1907 como *Pythium palmivorum* Butler (Waterhouse, 1970; Bush *et al.*, 2006). Es importante señalar que las diferencias existentes entre las dimensiones de los zoosporangios que se registraron en el presente estudio y las publicadas (Waterhouse, 1970), pueden atribuirse a su origen *in vitro*.



**Figura 4.** Clamidospora globosa terminal de *P. palmivora* donde se aprecia claramente el grosor de la pared celular.

Las pruebas de patogenicidad demostraron que *P. palmivora* fue el causante de la podredumbre blanda que atacó los frutos de la lechosa cultivada en el asentamiento campesino “Los Limones”, en Caparo, estado Barinas (Figura 5). Transcurridos 5d después de la inoculación, el patógeno había ocasionado síntomas similares a los observados en los frutos provenientes del campo. Al principio los tejidos invadidos mostraron aspecto húmedo alrededor del inoculo y en más del 65% de ellos apareció una secreción de látex blanco. Posteriormente los frutos enfermos se mostraron cubiertos por un crecimiento de



**Figura 5.** Síntomas y signos de podredumbre blanda en lechosa infectada experimentalmente con *P. palmivora*

aspecto blanco algodonoso conformado por hifas cenocíticas, zoosporangios obpiriformes y clamidosporas globosas. Los reaislamientos obtenidos a partir de frutos infectados artificialmente, confirmaron los postulados de Koch.

Luego de examinar exhaustivamente la literatura fitopatológica especializada, se concluye que el presente reporte constituye el primer anuncio formal sobre la presencia en Venezuela del oomiceto *P. palmivora* como causa de podredumbre blanda en frutos de lechosa.

*P. palmivora* fue primeramente reportada en Hawaii como causa del “Tizón o quema por *Phytophthora*” de la lechosa (Nelson, 2008). El patógeno ataca todos los órganos de este frutal arbustivo y en función de ello las alteraciones provocadas han sido descritas como “Podredumbre blanda del pie”, “Cáncer del tallo”, “Podredumbre blanda del fruto” y “Podredumbre radical” (Nelson, 2008). Sin

embargo, conviene señalar que según Hunter y Kunimoto (1974), el "Tizón" y la "Podredumbre radical en plántulas" fueron erróneamente atribuidas a *P. parasítica* Dast. (Hine *et al.*, 1965; Parris, 1943; Trujillo y Hine, 1965).

Otras especies de plantas que son atacadas por *P. palmivora* son fruto de pan (*Artocarpus altilis*, palmas incluyendo cocotero (*Cocos nucifera*), Orquideas (*Catteleya*), ivy Inglesa (*Hedera helix*), cacao (*Theobroma cacao*) (Nelson, 2008) e higo (*Ficus carica* L.) (Alfieri y Gholl, 1993; Zhang *et al.*, 2013). La enfermedad ocurre en lechosas de Filipinas, Sri Lanka, Santo Domingo, India, Indonesia, Malasia, Hawái, Mauricio, México, Australia, Brasil, España, Taiwán y posiblemente en otros lugares donde aún su presencia no ha sido descubierta (Nelson, 2008).

*P. palmivora* fue descubierta por primera vez en Filipinas en 1916 atacando el tallo, las raíces y los frutos de lechosa (Ploetz, 1998). Hasta principios de la década de los años setenta, los países con mayores registros de *P. palmivora* en lechosa eran Malasia, Hawái, Australia, Brasil, España y Taiwán, (Ko, 1971). Las pérdidas económicas provocadas por *P. palmivora* en este frutal son muy variables y dependen de las condiciones de clima y suelo predominantes en áreas particulares; sin embargo, para finales de los años ochenta se estimaron en hasta 20 % (Ko, 1987).

En general, las enfermedades causadas por microorganismos del género *Phytophthora*

son reconocidas como un problema de significativa relevancia económica. Las principales condiciones predisponentes para el desarrollo de los daños ocasionados por tales patógenos son: alto contenido de humedad en el suelo o la existencia de una película de agua sobre los tejidos, lo que implica que la incidencia tiende a incrementarse durante los períodos lluviosos.

En *P. palmivora* han sido identificadas varias cepas que difieren considerablemente en morfología y patogenicidad (Nelson, 2008). En el transcurso de la presente investigación, tanto en condiciones *in situ* como *in vitro*, no se encontraron las estructuras sexuales del patógeno, lo que evidencia que los aislados obtenidos durante la investigación pertenecen al mismo tipo de talo de apareamiento, cuya identidad desconocemos por no disponer de los patrones (probadores) reconocidos internacionalmente. Para que *P. palmivora* desarrolle las estructuras reproductivas sexuales (oosporas), se requiere la presencia y consiguiente apareamiento de los tipos de talos identificados arbitrariamente como A1 y A2, pero la posibilidad de que ambos talos se presenten naturalmente en el mismo sitio de manera simultánea es mínima. Por lo antes expresado, se presume que las oosporas de *P. palmivora* no desempeñan un rol significativo en el ciclo de la enfermedad que ocasiona en lechosa. Las clamidosporas son las principales estructuras de sobrevivencia en el suelo por periodos largos.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Alfieri Jr, S.A., and El-Gholl, N. E. 1993. *Phytophthora* fruit rot of fig, *Ficus carica* L. Florida Department of Agriculture and Consumer Services, Division of Plant Industry. *Plant Pathology Circular* N° 362. 2p.
- Bush, E. A., Stromberg, E. L., Hong, C., Richardson, P. A., and Kong, P. 2006. Illustration of key morphological characteristics of *Phytophthora* species identified in Virginia nursery irrigation water. Online. Plant Health Progress doi:10.1094/PHP-2006-0621-01-RS.
- Erwin, D.C., and Ribeiro, O.K. 1996. *Phytophthora* diseases worldwide. St. Paul, Minnesota, USA. APS Press.
- Erwin, D.C., Bartnicki- García, S., and Tsao, P.H., eds. 1983. *Phytophthora*: Its biology, taxonomy, ecology and pathology. The American Phytopathological Society, St. Paul, Minnesota, USA.

- FAO. 2010. Agricultural Data: FAOSTAT. Papayas. <http://faostat.fao.org/site/339/default.aspx>. 1 Julio 2010.
- Guevara, Y., Rondón A., Salcedo, F. y Betancourt, J. 1987. Marchitez bacteriana de la lechosa en Venezuela. En X Seminario Nacional de Fitopatología. Maracay, Venezuela. *Resúmenes*. pp.3.
- Hine, R. B., Holtzmann, O. V., and Raabe, R. D. 1965. Diseases of papaya (*Carica papaya* L.) in Hawaii. *Hawaii Agric. Exp. Stn. Bull.* 136. pp. 26
- Hunter, J. E., and Kunimoto, R. K. 1974. Dispersal of *Phytophthora palmivora* sporangia by wind-blown rain. *Phytopathology* 64: 202-206.
- Ko, W. H. 1987. Biological control of *Phytophthora* root rot of papaya with virgin soil. *Plant Dis.* 66:446-448.
- Ko, W. H. 1971. Biological control of seedling root rot of papaya caused by *Phytophthora palmivora*. *Phytopathology* 61:780-782.
- Nelson, S. 2008. *Phytophthora* blight of papaya. Cooperative Extension Service, College of Tropical Agriculture and Human Resources, University of Hawaii at Manoa. *Plant Disease* 53(PD-53). 7p.
- Parris, G. K. 1942. *Phytophthora parasitica* on papaya (*Carica papaya*) in Hawaii. *Phytopathology* 32: 314-320.
- Ploetz, R.C., Zentmyer, G.A., Nishijima, W.T., Rohrbach y Ohr, H.D. (Eds.). 1998. *Compendium of Tropical Fruit Diseases. The American Phytopathological Society*, St. Paul, Minnesota, USA. pp. 61-62.
- Rondón, A. 1990. Enfermedades de los frutales en Venezuela. Maracay, Venezuela. Instituto de Investigaciones Agropecuarias, CENIAP-FONAIAP. 96 p. (Serie B, N° 9).
- Storey, W.B. 1976. Papaya, *Carica papaya*, pp. 21-24. In: N.W. Simmonds (Ed.). *Evolution of Crop Plants*. Longman, Londres, Inglaterra.
- Trujillo, E. E. y Hine, R. B. 1965. The role of papaya residues in papaya root rot caused by *Pythium aphanidermatum* and *Phytophthora parasitica*. *Phytopathology* 55 (12): 1293-1298.
- Vegas, A., Trujillo, G., Marys, E., González, A., Fermín, G. y Cermeli, M. 2004. El virus de la mancha anillada de la lechosa en Venezuela: Descripción e importancia, medidas de prevención y control. *Revista Digital CENIAP HOY*, Número 6, octubre-diciembre 2004. Maracay, Aragua, Venezuela. URL: [www.cedniap.gov.ve/ceniaphoy/articulos/n6/arti/vegas\\_a/arti/vegas\\_a.htm](http://www.cedniap.gov.ve/ceniaphoy/articulos/n6/arti/vegas_a/arti/vegas_a.htm). Visitado en fecha: 30/09/2014.
- Waterhouse, G.M. 1963. Key to the species of *Phytophthora* de Bary. *Mycological Papers*. No 92.
- Waterhouse, G.M. 1970. The genus *Phytophthora* de Bary. Commonwealth Mycological Institute, Kew, Surrey, England. *Mycological Papers* N°. 122. 59p. 21plates.
- Zhang, C., W. Zhang, W., Ma, H. Q., and Zhang, G. Z. 2013. First report of *Phytophthora palmivora* causing fruit rot of fig (*Ficus carica* L.) in China. *Plant Dis.* 97: 1252.1